

**Vergleichende experimentelle Hormon-
therapie des humanen Prostatakarzinoms
anhand der Nacktmaustumorlinie PC 82**

*Diss. Erlangen
1983*

Vorgelegt

von

Reimund Walther

aus

Weißdorf



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Urologischen Klinik
mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. A. Sigel

Vergleichende experimentelle Hormontherapie des
humanen Prostatakarzinoms anhand der Nacktmaus-
tumorlinie PC 82

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Reimund Walther
aus Weißdorf

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. V. Becker

Referent: Prof. Dr. A. Sigel

Tag der mündlichen Prüfung: 27.06.1983

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Seite

Einleitung	1
I. Die Nacktmäuse	3
Herkunft	3
Immunsystem	4
Wirtstiere für Tumormodelle	5
II. Das Prostatakarzinom	7
Histologie	7
Therapie	7
III. Modelle für das Prostatakarzinom	10
Überblick	10
Zellkulturen in vitro	10
Tierkarzinome	10
Heterotransplantierte Tumoren auf Nacktmäusen	12
- Untersuchung von Ersttransplantaten	12
- Transplantation von Zellkulturen	13
- Serienmäßige Transplantation von soliden Gewebspartikeln	14
IV. Material und Methoden	15
1. Tierhaltung	15
2. Herkunft des Tumors	15
3. Behandlung	16
a) Transplantationstechnik	16
b) Therapieverfahren	17
4. Untersuchung des Tumors	17

	Seite
5. Versuchsablauf	19
V. Ergebnisse	21
1. Allgemeine Charakteristik	21
2. Meßergebnisse	22
3. Wachstum unbehandelter Tumoren	24
4. Tumorverhalten unter Therapie	24
5. Histologie unter Therapie	26
VI. Diskussion	28
1. Methodenkritik	28
a) geringe Serienzahlen	28
b) Untersuchungsmethoden des Tumors	29
2. Das PC 82 Modell in klinisch experimen-	
tellen Therapiestudien	29
VII. Abbildungen	33
VIII. Zusammenfassung	44
X. Literaturverzeichnis	46

Einleitung

Die Entwicklung menschlicher Tumormodellsysteme ist wesentlicher Bestandteil der tumorbiologischen Grundlagenforschung. Durch geeignete Tumormodelle soll erreicht werden, daß unabhängig vom Patienten proliferierendes menschliches Tumormaterial jederzeit und unbehandelt für experimentelle Arbeiten zur Verfügung steht.

Am tumorerkranken Patienten selbst können Fragen nach Wachstumskinetik und Hormonmetabolismus des Tumors nur in begrenztem Umfang untersucht werden. Ebenso erfordert die Entwicklung und Prüfung neuer Therapieformen geeignete Modelle. Zur Gewinnung menschlichen Tumormaterials gibt es prinzipiell zwei Möglichkeiten: die Tumorzellkultur in vitro und die Transplantation und Weiterzüchtung auf geeigneten Labortieren. Die Versuche, ein brauchbares Heterotransplantationssystem zu entwickeln, sind zahlreich (18):

Erstens die Transplantation an immunologisch privilegierte Stellen, wie die vordere Augenkammer oder das Gehirn von Nagern und die Backentasche von Hamstern. Die beiden ersten Möglichkeiten sind experimentell schwer zu handhaben, die letzte wurde durch häufiger auftretende späte Abstoßungsreaktionen begrenzt.

Zweitens die Immunsuppression der Wirtstiere

- unspezifisch durch Bestrahlung und/oder Kortikosteroide
- spezifisch durch Thymektomie und/oder Behandlung mit Anti-



lymphocytenserum (ALS) oder Antithrombocytenserum (ATS)
Drittens der Einsatz immunologisch inkompetenter Wirtstiere,
wie

- Feten und neugeborener Tiere
- Embryonen, insbesondere Chorioallantois oder Dottersack des Hühnereis
- und letztlich Nacktmäusen und Nacktratten, auf die sich die Tumortransplantationsforschung seit etwa zehn Jahren konzentriert.

I. Die Nacktmäuse

Die Geschichte der Nacktmäuse beginnt im Jahr 1962, als im Viruslabor des Ruchill Hospital in Glasgow, Schottland, eine haarlose Mausmutante gefunden wurde. Die Entdeckung wurde zwar kurz erwähnt (36), aber erst 1966 beschrieb Flanagan diese Mutante näher: die fehlende Fellbildung wird autosomal rezessiv vererbt und das mutierte Gen erhielt das Symbol nu (10). Größeres Interesse erlangten die Tiere, als Pantelouris nachwies, daß bei den $homocygoten\ nu/nu$ Tieren nur ein rudimentär ausgebildeter, funktionsloser Thymus vorhanden war (74). Da das Anwachsen bzw. die Abstoßung allogener Gewebstransplantate als wichtigster Funktionsparameter der zellvermittelten, häufig synonym gesetzt mit thymusabhängiger, Immunabwehr galt, boten sich die Nacktmäuse als potentielle Empfänger heterologer Transplantate an. Nachdem Rygaard 1969 von der ersten erfolgreichen Transplantation eines Stückes Rattenhaut auf Nacktmäuse berichtete (87), bestätigten viele Labors, daß die $homocygoten\ nu/nu$ Mäuse nicht in der Lage sind, Fremdstrukturen: Transplantations- oder Histiokompatibilitätsantigene zu erkennen und zu eliminieren. Im gleichen Jahr gelang noch Rygaard und Povlsen die erste erfolgreiche Heterotransplantation eines menschlichen Tumors, eines Kolonkarzinoms, vom Patienten direkt auf die Nacktmäuse (86). Giovanella transplantierte 1972 erfolgreich eine menschliche Tumorzellkultur, eine Melanomzellkultur (19). Die Anwachsrate von Tumoren auf Nacktmäuse schwanken aller-

dings zwischen 90 % beim Kolonkarzinom und 1 % beim Prostatakarzinom (82). Da Transplantate verschiedenster Spender auf Nacktmäusen gedeihen, scheint das unterschiedliche Milieu interieur von Spender und Empfänger keine wesentliche Rolle zu spielen. Die Ursachen müssen vielmehr bei den noch zahlreichen offenen Fragen über das Immunsystem der Nacktmäuse gesucht werden. Untersuchungen des peripheren Blutes der Nacktmäuse ergaben, verglichen mit normalen Mäusen, eine aufgrund der geringen Lymphocytenpopulation um 50 % erniedrigte Leukocytenpopulation. Im Ductus thoracicus der Nacktmäuse betrug die T-Zellpopulation 0 %. Im Knochenmark der Tiere wurden allerdings T-Zellvorläufer gefunden (113). Außerdem besitzen die Nacktmäuse 1 - 5 % theta-positive Lymphocyten, die, was den Oberflächenmarker theta betrifft, mit den T-Lymphocyten normaler Mäuse identisch sind. Sie haben aber höchstwahrscheinlich keine T-Zellfunktion und spielen bei der Transplantatannahme bzw. Transplantatabstoßung, wenn überhaupt, nur eine untergeordnete Rolle (78).

Ebenso ungeklärt ist der Funktionsmechanismus der in der Milz der Nacktmäuse gefundenen Natural-Killer-Cells (46, 47) und der in Milz und Knochenmark entdeckten Natural-Cytotoxic-Cells (25, 103).

Neuere Untersuchungen brachten auch Hinweise, daß die scheinbar ausbleibende Metastasierung der erfolgreich transplantierten Tumoren durch Immunsuppression der Nacktmäuse beeinflußt werden kann: Die Behandlung der Tiere mit Anti-Interferon und mit Anti-Lymphocytenserum (ALS) bewirkte die Filiarisierung einiger

Tumoren (21, 22, 48, 55, 80, 95). Die Metastasierung betreffend müssen allerdings zwei weitere Faktoren berücksichtigt werden: Erstens wird das humane Tumorstück den Nacktmäusen subcutan implantiert, wo der Tumor bindegewebig abgegrenzt wird. Beim Patienten sitzt das Karzinom homogen im Organ mit einer entsprechenden Lymph- und Blutversorgung, die die Metastasierung eher ermöglichen (18). Außerdem kann durch Änderung der Injektionsorte ein- und derselben Tumorzellkultur die Metastasierung deutlich beeinflusst werden (17). Zweitens ist die Lebensspanne tumortragender Nacktmäuse in der Regel sehr begrenzt, durchschnittlich vier bis sechs Monate, wogegen sich eine Tumorerkrankung beim Menschen meist über Jahre hinzieht (18).

Die ausbleibende Metastasierung der meisten erfolgreich transplantierten menschlichen Tumoren kann somit nicht mehr den Modellcharakter dieses Heterotransplantationssystems in Frage stellen. Andererseits darf eine Wechselwirkung zwischen Tierorganismus und Transplantat auch nicht mehr ausgeschlossen werden.

Entscheidend für den Einsatz der nu/nu Mäuse als Wirt heterotransplanterter Tumoren sind letztlich die offenkundigen Vorteile dieses Modells (1, 2, 11, 32, 69):

1. Einfache Tierhaltung und Züchtung ermöglichen die Durchführung von Großversuchen
2. Konditionierung (Thymektomie, Kortikosteroidtherapie etc.) ist nicht erforderlich und beeinflusst deshalb auch nicht

das Tumorwachstum.

3. Das Tumorwachstum kann äußerlich verfolgt und zumindest tendentiell gemessen werden.
4. Eine teilweise oder vollständige Entnahme eines oder mehrerer Tumoren, auch zeitlich versetzt, ist ohne Verlust der Tiere möglich.
5. Langzeituntersuchungen bis zu einem Jahr sind durchführbar.

II. Das Prostatakarzinom

Das Prostatakarzinom ist die häufigste maligne Neubildung des Urogenitaltraktes und die zweithäufigste Krebserkrankung des Mannes. 98 % der Tumoren sind Adenokarzinome, die nach Hermanek in drei Malignitätsgrade eingeteilt werden (26):

Grad 1: ausschließlich drüsig, nicht cribrös, keine nennenswerten Anaplasie

Grad 3: nirgends Drüsen oder starke Anaplasie oder reichlich Mitosen

Grad 2: sonstige; mittel zu Grad 1 und 3, z. B. cribrös

Da zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits mehr als die Hälfte der Patienten Metastasen haben, kommt der konservativen, hormonellen Therapie eine entscheidende Rolle zu.

Huggins und Hodges haben schon 1941 durch ihre Untersuchungen, für die sie den Nobelpreis für Medizin bekamen, nachgewiesen, daß das Prostatakarzinom durch die androgene Aktivität im Körper beeinflußt wird (33, 34). Durch Testosteronentzug degeneriert die androgensensible Prostatazelle, da Testosteron für die RNS-Synthese der Karzinomzelle unentbehrlich ist. Die normale Prostatazelle atrophiert. Allerdings sind 15 - 20 % der Prostatakarzinome gegenüber der Hormontherapie von vorneherein resistent (56). Für die Therapie sind folgende Möglichkeiten des Testosteronentzugs gebräuchlich, wobei hier nur auf diejenigen näher eingegangen wird, die bei unseren Versuchen

eingesetzt wurden:

- Durch Orchiektomie wird die Hauptproduktionsstätte des Testosterons (>90 %) ausgeschaltet.
- Östrogene hemmen über einen negativen Feedback-Mechanismus zwischen ihrem Blutspiegel und dem Sexualzentrum die Freisetzung der Releasingfaktoren für die Gonadotropine FSH und ICSH, deren Sekretion zurückgeht und ein Erlöschen der endogenen Testosteronproduktion bewirkt.
- Antiandrogene, wie Cyproteronacetat, Androcur^R, hemmen durch ihre gestagene Komponente die Gonadotropinsekretion und verdrängen kompetitiv bei entsprechender Dosierung durch ihre antiandrogene Komponente Testosteron am Erfolgsorgan selbst. Sowohl bei längerer Östrogenmedikation als auch bei längerer Cyproteronacetatapplikation findet man erhöhte Prolaktinspiegel (16, 20, 37, 39, 65, 66, 75, 85, 96, 104, 110).
- Estramustinphosphat, Estracyt^R, wirkt ebenfalls infolge der Östrogenkomponente über antiandrogene und antigonadotrope Eigenschaften. Zusätzlich hat es noch durch die Stickstofflostgruppe einen zytostatischen Effekt (3, 12, 14, 41, 45, 50, 51, 61, 68, 79, 107, 108, 112).
- Sch 13 521, Flutamid^R, ist ein nicht steroidales Antiandrogen, das multimodal an der Prostata selbst wirkt. Bisher konnte nur ein verminderter Transport von Testosteron in die Zelle nachgewiesen werden. Der Serumtestosteronspiegel war nicht signifikant verändert (5, 15, 38, 62, 64, 77, 98, 99, 106).

Das histologische Bild der hormonbedingten Regression ist folgendermaßen charakterisiert: das Epithel ist abgeflacht, die Acini dadurch erweitert, das Zytoplasma, z. T. auch die Kerne vakuolisiert; andere Zellkerne werden pyknotisch, Zum Teil ist das Bild einer squamösen Metaplasie zu beobachten. Diese Veränderungen sind sowohl für das lokalisierte Prostatakarzinom selbst als auch für seine Metastasen nachgewiesen (27, 92).

Biochemisch läßt sich unter hormoneller Therapie eine herabgesetzte Fermentaktivität der Karzinomzelle, insbesondere der sauren Prostataphosphatase nachweisen.

Als Standardtherapie des metastasierenden Prostatakarzinoms ist allgemein die bilaterale Orchiektomie kombiniert mit niedrig dosierter hormoneller Medikation anerkannt (60). Allerdings muß auf neuere Veröffentlichungen hingewiesen werden, die den Nutzen der Hormontherapie hinsichtlich der Überlebenszeit bei fortgeschrittenen Prostatakarzinomen in Frage stellen (23, 59). Jedoch zeigt sich hier immer wieder die Schwierigkeit der klinischen Studien, die hinsichtlich der Kontrollgruppen der unbehandelten Patienten oftmals auf ältere Studien ohne ausreichend dokumentierte Tumorstadien- und Malignitätskriterien angewiesen sind.

III. Modelle für das Prostatakarzinom

Das Bestreben, ein brauchbares Modell für das Prostatakarzinom zu entwickeln, ist bereits in Monographieform dokumentiert (58). Im wesentlichen werden vier verschiedene Methoden angewandt:

1. die Erzeugung von Tierkarzinomen,
2. die Zell- bzw. Organkultur menschlichen Prostatagewebes in vitro,
3. die Weitertransplantation von spontan entstandenen Prostatakarzinomen von Ratten,
4. die Heterotransplantation menschlichen Tumorgewebes auf immuninkompetente Tiere, insbesondere Nacktmäuse.

Experimentell induzierte Tierkarzinome sind meist Plattenepithelkarzinome und als Modell folglich unbrauchbar (89).

Die Zell- und Organkulturen in vitro spielen heute so gut wie keine Rolle mehr. Es hat sich gezeigt, daß in einer Zellkultur verständlicherweise nur solche Karzinomzellen überleben können, die ein hohes Maß an Entdifferenzierung aufweisen und dadurch mit dem Minimum an Stoffwechselversorgung in der künstlichen Nährlösung zurecht kommen (13, 24, 42, 43, 44, 52, 53, 70, 76, 81, 84, 90, 91, 101, 102, 109, 111).

In neueren Veröffentlichungen wurden wachsende Zahlen von

Tiermodellen des Prostatakarzinoms beschrieben (58, 83). Obwohl einerseits die klinische Manifestation spontaner Prostatakarzinome von Labortieren sehr gering ist (67), sind inzwischen vier Prostatakarzinome von Ratten beschrieben worden, die für die Forschung brauchbar sind: Dunning Tumoren, Noble Tumoren, Pollard Tumoren und A x C Tumoren (4, 7, 97). Die ersten drei sind transplantierbar. Allerdings existieren bereits bei allen Karzinomen hormonresistente Sublinie, die bei Therapiestudien störend in den Vordergrund treten. Außerdem haben sich die Sublinien histologisch im Sinne der Entdifferenzierung verändert. Das Metastasierungsverhalten ist unterschiedlich, auch innerhalb der gleichen Tumorlinie. Alle Tumoren sind zwar in ihrem biologischen Verhalten dem menschlichen Prostatakarzinom ähnlich, doch wird ihr Wert für Therapiestudien entweder durch primäre Hormonunabhängigkeit oder durch eine vorhersagbare Resistenzentwicklung während einer Behandlungsserie stark eingeschränkt. Zur weiteren Charakteristik der homologen Prostatakarzinommodelle bei Ratten sei hier auf umfassendere Darstellungen verwiesen (6, 8, 9, 35, 57, 58).

Die Entwicklung von Modellen des menschlichen Prostatakarzinoms konzentriert sich inzwischen auf die Heterotransplantation menschlichen Tumorgewebes auf Nacktmäuse (49, 93, 94). Bisher wurden drei verschiedene Wege beschritten:
Erstens: Okada untersuchte dreizehn verschiedene Ersttransplan-

tate von Prostatakarzinomen auf Nacktmäuse, ohne daß damals bereits Erkenntnisse aus gewonnenen Tumorlinien zur Verfügung standen (73). Während einer Beobachtungszeit von 33 bis 137 Tagen zeigte sich bei den einzelnen Primärtransplantaten eine sehr geringe Anwachsrate, zudem äußerst variable Veränderungen der Heterotransplantate infolge partieller Nekrosen, insbesondere der drüsigen- bzw. karzinomatösen, zentral gelegenen Anteile während der ersten Tage auf dem Wirtstier; dann unterschiedliche Kapillareinsprossung, squamöse Metaplasie der Drüsenepithelien, daraus resultierend Form- und Volumeninkonstanz. Außerdem blieb der Anteil Karzinom : Prostataadenom : Prostatastroma zum Zeitpunkt der Transplantation unbekannt. Da experimentell brauchbare Parameter somit nicht zur Verfügung standen, wurde die Heterotransplantation von Organ-tumorpartikeln nur noch zur Gewinnung proliferierenden Karzinoms, d. h. einer Übertragbaren Tumorlinie, weitergeführt.

Zweitens: Zellkulturen menschlicher Karzinome wachsen in der Regel leichter auf Nacktmäusen. Die entstandenen Tumoren können histologisch und elektronenmikroskopisch untersucht werden. Die Tiere können experimentell behandelt und das Ergebnis der verschiedenen Behandlungsmodalitäten kann relativ leicht durch Messung der Änderung der Tumorgröße im Vergleich zu Kontrollgruppen dargestellt werden. Solche Modelle wurden in verschiedenen Laboratorien entwickelt:

- Die Zelllinie EB 33 und ein androgensensibler Klon von EB 33

wurden intensiv untersucht (29, 71, 72). Allerdings wird diskutiert, ob die Linie mit HeLa-Zellen verunreinigt ist (63). Der Nachweis von saurer Prostataphosphatase spricht jedoch für prostatistischen Ursprung. Die Brauchbarkeit dieser Linie ist wegen ihrer geringen Ähnlichkeit mit menschlichem Prostatakarzinom allerdings sehr eingeschränkt. Das gleiche gilt für die Linie DU 145 (24, 54, 100). Sie stammt aus der Gehirnmastase eines menschlichen Prostatakarzinoms.

- Die Linien PC 3 (44) und HpC (40) wurden noch nicht ausreichend charakterisiert. Vor kurzem wurde berichtet, daß die Linie LnCaP saure Prostataphosphatase produziert (31). Zusammenfassend kann über die Zellkulturen gesagt werden, daß die Ergebnisse bisher enttäuschten. Die Wahrscheinlichkeit ist gering, eine Zelllinie zu entwickeln, die die Ansprüche eines brauchbaren Modells für das menschliche Prostatakarzinom erfüllt.

Drittens: Die serienmäßige Transplantation des auf Nacktmäusen proliferierenden menschlichen Prostatakarzinoms ist bisher nur viermal gelungen:

- Shimosato berichtet von einem Prostatakarzinom, das dreimal übertragen wurde. Der Tumor erhielt die Bezeichnung PR 1 und wurde später als indifferent und hormonunabhängig beschrieben (93).
- Lola M. Reid berichtet ebenfalls von der erfolgreichen serienmäßigen Transplantation eines Prostatakarzinoms (81). Der

Tumor, R 198, wächst langsam, produziert saure Prostataphosphatase und zeigt Androgenabhängigkeit. Jedoch besitzt der Tumor nicht die klassische Morphologie eines Prostatakarzinoms. Es wird vermutet, daß er von Zellen aus der Nähe der Urethra abstammt und eventuell als Übergangszellkarzinom klassifiziert werden muß. Der genaue Ursprung des Tumors blieb jedenfalls unklar, ebenso ob und welche Rolle eine mögliche Sublinie spielt. Experimentelle therapeutische Anwendungen wurden bisher nicht publiziert.

- PC 82 ist Gegenstand der folgenden Beschreibung.

- Schließlich gelang noch der urologischen Arbeitsgruppe Erlangen 1981 die erfolgreiche serienmäßige Heterotransplantation eines wenig differenzierten Prostatakarzinoms. Es erhielt die Bezeichnung PC EW, zeigt histologisch drüsige Struktur, Hormonsensibilität und saure Prostataphosphatase-Aktivität. Weitere Mitteilungen sind in Vorbereitung.

IV. Material und Methoden

1. Tierhaltung

Die Nacktmäuse entstammen der Balb C Linie und werden aus eigener Zucht bereitgestellt. Als Muttertiere werden grundsätzlich nur heterocygote nu/+ Weibchen verwendet, weil sie für die Jungtiere mehr Milch produzieren. Außerdem werden die heterocygoten Jungtiere, die nach wenigen Tagen an einem weißen Flaum zu erkennen sind, sofort selektiert, so daß ein Muttertier nur ca. fünf homocygot nu/nu Jungtiere zu versorgen hat. Die Tiere konnten nicht unter sterilen Kautelen gehalten werden, sie werden lediglich zweimal wöchentlich in saubere nicht sterile Kästen mit frischem Einstreu gesetzt. Unter ständiger Luftumwälzung wird die Raumtemperatur konstant auf 26 ° Celsius, die relative Luftfeuchtigkeit bei 70 % gehalten. Das Trinkwasser wird mit Salzsäure auf pH 3 angesäuert.

2. Herkunft des Tumors

Ein 58-jähriger Mann, dessen Vater an Prostatakrebs vor Jahren verstorben war, ließ sich wegen brennender perinealer Schmerzen untersuchen. Rektal wurde eine Induration in der Prostata getastet, die sich auf die Samenblase ausdehnte (T3). Die Biopsie ergab ein Karzinom und der Patient wurde nach negativer Beckenlymphdissektion am 19. Juli 1977 total perineal

prostatektomiert. Der Tumor hatte die fibröse Organkapsel bereits penetriert und infiltrierte das Gebiet um beide Samenblasen. Die Histologie ergab ein mäßig differenziertes Adenocarcinom vom cribriformen Typ, pT3, NO, G (2) (Abb. 1). Beim Patienten wurde 1978 wegen Kreuzschmerzen eine Knochenszintigraphie vorgenommen, die in der Lendenwirbelsäule zwei kleine Herde zeigte, die auf eine Metastasierung hindeuteten. Nach Orchiektomie verschwanden die Kreuzschmerzen innerhalb von vier Wochen. Die Serum-Phosphatasen blieben stets im Normbereich, die RIA-Technik zur Bestimmung der sauren Prostataphosphatase war damals noch nicht Routine.

3. Behandlung

a) Transplantationstechnik

Die Tiere wurden entweder mit Narkoseäther oder durch eine intraperitoneale Injektion von 0,2 ml 5% Chloralhydrat narkotisiert. Der Tumor wurde zunächst vom eingeschläfertem Spendertier steril explantiert und in einer Schale mit physiologischer Kochsalzlösung in streichholzkopfgroße Stücke zerteilt. Nach Desinfektion der Haut mit Alkohol und unter Verwendung steriler Instrumente wurde nach einem Hautschnitt zwischen den Schulterblättern der Mäuse mit einer Schere die Subcutis aufgespreizt, in die dann das Tumorstück implantiert wurde; anschließend Hautverschluß durch Naht. Da die Angehrate bei nur ca. 60 % lag, wurde die Methode etwas modifiziert.

Mit der Schere wurde nun eine tiefere Tasche in das Fettgewebe gespreizt und dann weiter wie bereits beschrieben vorgefahren. Auf diese Weise konnte die Angehrate auf 90 % gesteigert werden. Der heranwachsende Tumor war nach sechs bis acht Wochen erkennbar.

b) Therapieverfahren

Die Hormone wurden in Sesamöl gelöst dreimal wöchentlich intraperitoneal appliziert. Estramustinphosphat, Estracyt^R, wurde in 5%-iger Glukoselösung tiefgefroren aufbewahrt und sofort nach dem Auftauen ebenfalls intraperitoneal injiziert. Die Kastration der Tiere wurde vorwiegend unter Chloralhydratnarkose und hemisterilen Kautelen durchgeführt: Via Skrotalschnitt wurden die Testes freipräpariert, ligiert und abgesetzt.

4. Untersuchung des Tumors

Histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen wurden mittels Routinetechniken durchgeführt. Die immunhistochemische Färbung für saure Prostataphosphatase wurde der von Jöbsis entwickelten Technik folgend ausgeführt (28, 40). Das Chromosomenmuster von PC 82 wurde anhand einer Einzelzellsuspension explantierter Tumoren mittels der genetischen Routinetechnik untersucht. Zusätzlich wurde die Impulscytophotometrie eingesetzt.

Serumtestosteron- und Prostataphosphatasespiegel bestimmten wir mit Radio-Immun-Assay-Techniken.

Die makroskopische TumorgroÙe wurde mit einer MeÙuhr bestimmt, wobei wir jeweils den gröÙten und den dazu senkrecht stehenden Durchmesser registrierten. Jeder Wert wurde aus dem Mittel dreier einzelner Messungen gebildet. Von jedem MeÙwert wurde die Hautdicke der Tiere subtrahiert. Auf Messung der Tumorhöhe muÙten wir wegen des enormen MeÙfehlers verzichten. Zehn Tiere wurden von zwei und drei Personen gleichzeitig gemessen, um die Signifikanz der Methode zu bestätigen. Zur Auswahl der zu messenden Tumoren wurden folgende Kriterien angewandt:

1. Der Tumor muÙte gut sichtbar und für die Messung leicht zugänglich sein.
2. Die Tumorkonfiguration muÙte eindeutig zu messen sein, also vorwiegend längliche Tumorstücke mit klarem Längs- und Querdurchmesser.
3. Die AusgangsgroÙe sollte unter LinsengroÙe liegen, um Tumoren in der exponentiellen Wachstumsphase ohne zentrale Nekrosen zu erhalten.
4. Makroskopisch eingeblutete Tumoren oder Tumoren mit histologisch verifizierten pseudocystischen Veränderungen wurden von den MeÙreihen ausgenommen.
5. Jeder gemessene Tumor wurde grundsätzlich histologisch untersucht.

5. Versuchsablauf

Bei einem laufenden durchschnittlichen Tierbestand von ca. 100 PC 82 transplantierten Männchen erfüllte der Tumor bei insgesamt 179 Tieren die für die Messung notwendigen Bedingungen. Der Zeitraum zwischen der Transplantation und dem Beginn der Messungen betrug im Durchschnitt 54 Tage. Bei 83 Tieren konnte eine Therapiedauer von mindestens 21 Tagen erzielt werden.

Es ergab sich dabei folgende Gruppierung (Tab. 1).

Tab. 1: Einteilung der Therapiegruppen

I. Gruppe: Kastration	: 6 Tiere
II. Gruppe: 20 µg 17-β-Östradiol täglich	: 5 Tiere
III. Gruppe: Kastration plus 20 µg 17-β-Östradiol täglich	: 8 Tiere
IV. Gruppe: Kastration plus 60 µg Estramustinphosphat täglich	: 10 Tiere
V. Gruppe: 180 µg Estramustinphosphat täglich	: 10 Tiere
VI. Gruppe: 300 µg Estramustinphosphat täglich	: 14 Tiere
VII. Gruppe: 400 µg Cyproteronacetat täglich	: 16 Tiere
VIII. Gruppe: 250 µg "Sch 13 521", Flutamide ^R , täglich	: 14 Tiere
IX. Gruppe: Kontrollgruppe ohne Therapie	: 22 Tiere

V. Ergebnisse

1. Allgemeine Charakteristik

Für die erste Tierpassage 1977 wurden vier nu/nu und vier vorher ganzkörperbestrahlte nu/nu Männchen verwandt. Die vorbestrahlten Tiere starben kurz nach der Transplantation an Enteritis. Auf den vier anderen konnte nach ca. acht Wochen ein langsames Tumorstadium beobachtet werden (28). Das histologische Bild aus der ersten Mauspassage war bei allen Tieren gleich: es zeigte ein cribriformes Prostatakarzinom, das mit dem Originaltumor identisch ist. Das Transplantat war stromaarm. Das histologische Bild blieb bis zu der inzwischen erreichten 22. Mauspassage im Oktober 1982 unverändert (Abb. 2). Aus der Maus sprossen Blutgefäße in den Tumor ein. Bisher wurde nicht untersucht, ob das mittransplantierte Mausstroma bei späteren Tierpassagen eine Rolle spielt.

Das elektronenmikroskopische Bild ergab keinen Hinweis auf eine Virusinfektion. Ansonsten sei hier auf frühere Studien verwiesen (28).

Die Chromosomenanalyse ergab mehrere Mitosen mit tetraploidem Chromosomensatz. Die Impulscytophotometrie zeigte eine homogene Zellpopulation mit tetraploidem DNS-Gehalt, daneben eine zahlenmäßig geringe diploide Sublinie.

Durch spezifische immunhistochemische Technik konnten Paraffinschnitte des Originaltumors für saure Prostataphosphatase posi-

tiv angefärbt werden. Tumorstücke von mehreren Mauspassagen zeigten eine stark positive Anfärbung für das Markerenzym. PC 82 hat keine ABO-Blutgruppenantigene auf seiner Zelloberfläche, wie aus einer serologischen Analyse hervorging. Im Serum nicht transplantiertener männlicher Nacktmäuse erreichte die saure Prostataphosphatase 0,1 ng/ml, bei tumortragenden Tieren 0,6 ng/ml. Wegen der geringen Differenz erschien die saure Prostataphosphatase nicht als Beurteilungsparameter geeignet, es wurden keine weiteren Bestimmungen durchgeführt.

Auf Weibchen und kastrierten Männchen konnte keine Tumorerproliferation beobachtet werden, wohl aber wurden noch nach vielen Wochen histologisch vitale, stark regressiv veränderte Herde nachgewiesen. Wurde ein bereits behandelter Tumor mit regressiver Histologie erneut auf eine nicht vorbehandelte männliche Maus transplantiert, so normalisierte sich die Histologie während dieser Mauspassage. Eine hormonrefraktäre Sublinie unter Orchiektomie oder Hormontherapie trat nicht auf. Bisher konnte weder eine Metastasierung in regionale Lymphknoten noch in entfernte Organe beobachtet werden.

2. Meßergebnisse

Die Simultanmessungen der gleichen Tumoren durch verschiedene Personen wurden mit dem Wilcoxentest über verbundene Stichproben auf Signifikanz geprüft: bei $\alpha = 0,05$ war die

Prüfgröße kleiner α und die Nullhypothese konnte beibehalten werden (88). Daraus folgt, daß die Steigung der Kurve, der geometrische Parameter des Tumorstwachstums, für einen Tumor bei Messungen durch verschiedene Personen gleich war. Abbildung 3 zeigt die Darstellung der Simultanmessung eines Tumors, wobei der parallele Kurvenverlauf von der ersten und zweiten Meßperson repräsentativ für alle Simultanmessungen ist. Durch Umrechnung der absoluten Meßwerte in Prozentwerte ergibt sich bei beiden Messungen die gleiche Steigung der Kurve.

Außerdem ermöglicht die Umrechnung in Prozentwerte, wozu bei Therapiebeginn der Tumordurchmesser gleich 100 % gesetzt wurde, den direkten Vergleich verschiedener Tumoren und damit verschiedener Therapien: Die Wachstumskurven aller therapierten Tumoren können so in einer einzigen Abbildung im direkten Vergleich aufgezeigt werden (Abb. 6).

Hierfür ist allerdings die statistische Gleichbehandlung von Kurven, deren Erstellung zu verschiedenen Zeitpunkten post transplantationem begonnen wurde, notwendig. Abbildung 4 zeigt das Wachstumsverhalten von 30 unbehandelten und 15 durch Kastration bzw. Kastration plus 17- β -Östradiol behandelten Tumoren: Während der exponentiellen Wachstumsphase vom 35. bis ca. 80. Tag nach Transplantation verlaufen alle Kurven parallel und linear ansteigend, es wurde keine Tumorverkleinerung beobachtet. Daraus folgt die Zulässigkeit der statistischen Gleichbehandlung der Wachstumskurven bei Tumordurchmessern von 3 bis

7 mm. Das spontane Tumorstadium blieb während der Beobachtungszeit, gemessen am Prozentanstieg der unbehandelten Tumoren, gleich. Bei den behandelten Tumoren wurde ausschließlich eine Durchmesser-Verkleinerung registriert, ein späteres Wachstum im Sinne einer Hormonresistenz trat nie auf.

3. Wachstum unbehandelter Tumoren

Die große Mehrheit der gemessenen Tumoren verdoppelten ihren Durchmesser in ungefähr 40 Tagen. Aus dem Durchmesser wurde über die Formel für Kugelvolumen approximativ das Tumorstadium berechnet. Durch semilogarithmische Auftragung des Volumens in Abhängigkeit zur Zeit nach Transplantation konnte eine theoretische Volumenverdoppelungszeit von 12 Tagen extrapoliert werden (Abb. 5). Die Untersuchung von Tumormaterial mittels Impuls-cytophotometrie brachte eine Zellzykluszeit von 18 Tagen. Der scheinbare Widerspruch liegt in der Architektur des Tumors begründet. Ein identisches Phänomen ergab sich bei den Messungen der Volumenverdoppelungszeit und der impuls-cytophotometrisch bestimmten Zellzykluszeit der im selben Laboratorium untersuchten Tumorstadium PC EW.

4. Tumorstadiumverhalten unter Therapie (Abb. 6), (32)

Die Kastration ($n = 6$) bewirkt einen sofortigen Wachstumsstillstand mit anschließendem leichten Rückgang des Tumordurchmessers

während der folgenden Wochen. Der bisher längste Beobachtungszeitraum erstreckte sich über 75 Tage, wobei die Tumorgroße nach zunächst kontinuierlichem Rückgang während der letzten 30 Tage konstant blieb. Erneutes Wachstum eines Tumors konnte nicht beobachtet werden.

Die Behandlung der Tiere mit 17- β -Östradiol ($n = 5$) in einer Dosierung von 20 μg täglich brachte im Mittel einen stärkeren Rückgang der Tumorgroße als die alleinige Kastration.

Die Kombination von Kastration und 17- β -Östradiol in obiger Dosierung bewirkte den stärksten Rückgang der Tumorgroße ($n = 8$).

Die Anwendung von Estramustinphosphat in den Dosierungen 180 μg täglich ($n = 10$) und 300 μg täglich ($n = 14$) brachte innerhalb der ersten drei Wochen keinen Rückgang der Tumorgroße, jedoch eine Wachstumsverzögerung, bzw. einen Wachstumsstillstand. Bei einer Kombination von Kastration und Estramustinphosphat in einer Dosierung von 60 μg täglich wurde eine Verkleinerung der Tumorgroße beobachtet, die zwischen der bei Kastration und der bei Östradiolbehandlung lag. Zur Kontrolle der Estramustinphosphatbehandlung wurde der Serumtestosteronspiegel männlicher Tiere bestimmt: Zwei unbehandelte Tiere wiesen dem humanen Testosteronspiegel entsprechende Werte von 6,4 ng/ml und 7,0 ng/ml auf. Bei vier mit 180 und 300 $\mu\text{g/Tag}$ Estramustinphosphat therapierten Tieren ergaben sich noch Werte zwischen 1,75 ng/ml und 2,2 ng/ml. Im Gegensatz dazu lag, zwei Mitteilungen zufolge, der Serumtestosteron-

spiegel bei Patienten, die mit Estramustinphosphat behandelt wurden, auch bei niedriger Dosierung unter 0,2 ng/ml (12, 14). Die Leukocytenzahl - bei unbehandelten Mäusen zwischen 4000 und 6000 pro mm³ - war bei estramustinphosphatbehandelten Tieren je nach Dosierung stark reduziert, bei 300 µg/Tag konnten nur noch 750 bis 1500 Leukocyten pro mm³ Blut ausgezählt werden.

Die Applikation von 400 µg Cyproteronacetat täglich (n = 16) bewirkte einen Wachstumsstillstand der Tumoren, wobei die mittlere Verminderung des Tumordurchmessers zwischen dem der mit Estramustinphosphat und dem der mit Kastration behandelten Tieren angesiedelt war. Der Serumprolaktinspiegel konnte wegen der zu geringen Blutmenge, weniger als 1 ml, sowohl bei den mit Östradiol als auch bei den mit Cyproteronacetat behandelten Mäusen nicht bestimmt werden.

Die Behandlung der Tiere mit Sch 13 521, Flutamid^R, in einer Dosierung von 250 µg täglich (n = 14) brachte die geringste Wachstumsverzögerung aller Hormontherapien, jedoch mit einem deutlichen Abstand zu den unbehandelten Tumoren (n = 22).

5. Histologie unter Therapie (30)

Histologisch ergaben sich bei den Tumoren der Therapiegruppen I bis III, also Kastration, Östradiolapplikation und der Kombination aus beiden, folgende regressiven Veränderungen: abgeflachtes Epithel, erweiterte Drüsenlumina und stellenwei-

se aufgehelltes und vakuolisiertes Zytoplasma. Die Nuklei waren zum Teil ebenfalls vakuolisiert, zum Teil aber pyknotisch. Unter längerer Östradiolanwendung zeigte sich in den Drüsenlumina stellenweise ein der squamösen Metaplasie ähnliches Bild. Die totale Nekrose eines Tumors konnte nur selten beobachtet werden (Abb. 7 und 8).

Die mit Estramustinphosphat behandelten Tumoren der Gruppen IV bis VI, auch jene, die äußerlich ihren Durchmesser vergrößerten, zeigten im histologischen Bild stellenweise eine erhebliche Erweiterung der Drüsenlumina mit gleichzeitig erniedrigtem Epithel. Die Zellkerne erschienen teils pyknotisch, teils mit scholligem Chromatin (Abb. 9).

Die histologischen Bilder der mit Cyproteronacetat, Gruppe VII (Abb. 10), und der mit Sch 13 521, Flutamid^R, Gruppe VIII (Abb. 11), behandelten Tumoren besaßen ähnliche Merkmale der Regression: Aufhellung und Vakuolisierung des Zytoplasmas, pyknotische Degeneration der Nuklei und stellenweise Veränderungen im Sinne einer squamösen Metaplasie.

VI. Diskussion

1. Methodenkritik

a) geringe Serienzahlen

Die aufgezeigten Therapiestudien konnten nur in kleinen Serien durchgeführt werden. Die Ursachen hierfür sind:

- die begrenzte Kapazität des Tierstalles, die eine Gesamttierzahl von mehr als 500 Tieren einschließlich der Zucht nicht zuließ;
- der Umstand, daß vom Tiernachwuchs nur ein Viertel, nämlich die nu/nu Männchen, als Transplantatempfänger verwendbar waren, wobei zeitweise wegen mehrerer Programme nur 40 % der Männchen für PC 82-Versuche eingesetzt werden konnten;
- die phasenweise durch Darminfektionen drastisch verkürzte Lebenserwartung der Tiere, so daß viele Mäuse vor oder kurz nach Therapiebeginn ausfielen;
- die strengen Auswahlkriterien für Meßtiere, die die Zahl der für Therapiestudien brauchbaren Tiere nochmals stark reduziert haben.

Es mußten durchschnittlich zehn Tiere transplantiert werden, um daraus ein Tier mit einer vollständigen Wachstumskurve zu erhalten. Würde man sich bei der Verlaufskontrolle der Therapie lediglich auf die Histologie beschränken, ließe sich das Verhältnis mindestens auf fünf zu eins reduzieren.

b) Untersuchungsmethoden des Tumors

Da bis auf die Meßtechnik nur Routineverfahren zur Untersuchung des Tumors verwendet wurden, soll hier nur auf erstere eingegangen werden.

Leider standen zur Größenmessung des Tumors keine anderen objektivierbarer Möglichkeiten, wie z. B. Mikroultraschall, zur Verfügung, so daß die Tumorgroße mit einer Meßuhr bestimmt werden mußte. Es ist offensichtlich, daß mit diesem Verfahren keine quantitativ exakten Ergebnisse erzielt werden können. Fünf Nachkontrollen des Durchmessers von in toto explantierten, formalinfixierten und geschnittenen Tumoren unter dem Mikroskop ergaben größenkorrelierte Differenzen von 0,1 mm bis 0,3 mm. Diese Abweichungen können bei der Formalinschrumpfung des fixierten Präparates oder schrägem Schnittverlauf durch das Präparat akzeptiert werden. Andererseits konnte durch Simultanmessung des gleichen Tumors, deren Signifikanz mit dem Wilcoxon-Test überprüft wurde, die gleiche Steigung der Wachstumskurve ermittelt werden, so daß trotz aller Bedenken die Tumormessung mittels Meßuhr eine zuverlässige Orientierung über Wachstumsrichtung und Geschwindigkeit liefert. Entscheidendes Kriterium zur Beurteilung der eintretenden Regression unter Therapie war jedoch immer die Histologie.

2. Das PC 82 Modell in klinisch experimentellen Therapiestudien

Die bereits ausführlich dargestellte Problematik des Nacktmaus-

modells soll hier nur noch einmal zusammengefaßt werden:

Die Nacktmäuse können nicht als immunologisch völlig inerte Wirtstiere betrachtet werden. Das rudimentäre Abwehrsystem der Tiere kann für die z. T. sehr niedrigen primären Anwachs-raten der Tumoren und die meist ausbleibende spontane Meta-stasierung mitverantwortlich sein. Möglicherweise liegt das Problem der Anwachsrate auch in der Oberflächenantigenstruk-tur des Tumors begründet: PC 82 hat keine ABO Blutgruppenanti-gene auf der Zelloberfläche. Außerdem geht die Literatur bis-her nicht auf nähere Daten ein, welche Rolle die Materialge-winnung - Operationspräparate, Stanzbiopsien etc. - bei der Angehrate spielt, und welche Überlebenszeit der Tiere post transplantationem mindestens erforderlich ist. Für die Brauch-barkeit dieses Tumormodells sprechen im wesentlichen folgende Punkte:

1. Es ist äußerst einfach zu handhaben, falls die serienmä-Bige Weitertransplantation gesichert ist. Davon kann man ausgehen, wenn das Transplantat nach der zweiten Mauspassa-ge noch lebhafte Proliferation zeigt.
2. Bisher wurde über keinerlei Eigenschaft dieses Tumormodells berichtet, die den Modellcharakter für klinisch experimentelle Studien in Frage stellt. Insbesondere wurden bisher am Tumor selbst keinerlei Veränderungen beschrieben, die durch oder nach Transplantation auftraten.
3. Es wird immer noch davon ausgegangen, daß mit menschlichen Tumorgewebe repräsentativere Therapiestudien gemacht werden

können als mit Tierkarzinomen (4).

4. Allein die Heterotransplantation humaner Tumoren auf Nacktmäuse bietet die Möglichkeit, daß ein und dasselbe Karzinom parallelen und konsekutiven Therapiestudien zugeführt werden kann.

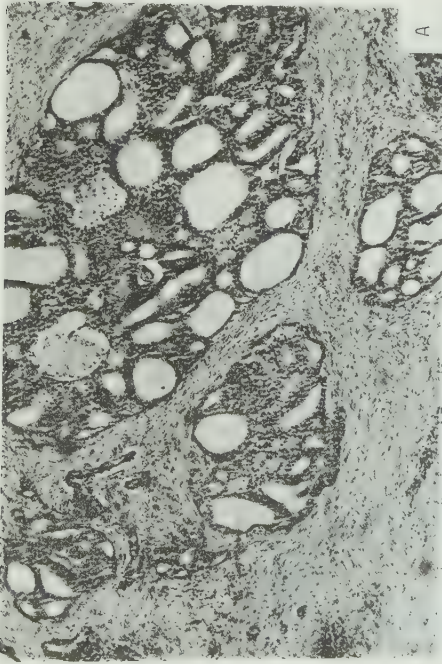
PC 82 ist bisher (1981/82) das einzige beschriebene auf Nacktmäuse transplantierte menschliche Prostatakarzinom, mit dem klinisch-experimentelle Therapiestudien durchgeführt wurden. Es zeichnet sich vor allem durch seine konstante Androgenabhängigkeit aus und ist in dieser Eigenschaft den Tierkarzinomen der Prostata überlegen, insbesondere den Rattenkarzinomen.

Unsere mit PC 82 gemachten Erfahrungen können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

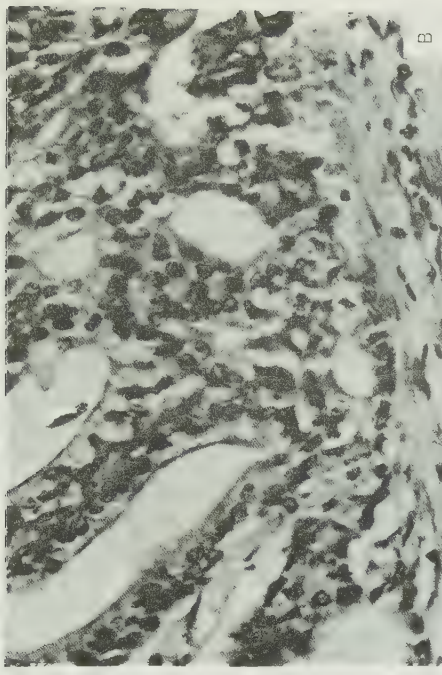
1. Die Histologie des transplantierten Tumors ist seit fünf Jahren konstant geblieben: PC 82 behält seine cribriforme Struktur bei und zeigt kaum Bindegewebsproliferation. Es fand keine Entdifferenzierung statt.
2. Bisher haben sich keine androgenresistenten Sublinien entwickelt.
3. Die regressiven Veränderungen entsprechen denen behandelter Patientenkarzinome.
4. Der scheinbar summative Effekt der kombinierten Behandlung mit Orchiektomie und Östradiolapplikation bedarf einer weiteren statistischen Abklärung mit größeren Fallzahlen. Die dazu nötigen Versuche laufen bereits.

5. Die zusätzliche Mitführung von DNS-Gehalt und DNS-Kinetikmessung hat sich als weiterer Beurteilungsparameter angeboten. Erste Serien sind eingeleitet.

Das Nacktmausmodell des menschlichen Prostatakarzinoms erweist sich somit als wertvolles und klinisch relevantes Tumormodell. Der einzige Nachteil ist in der geringen Angeh-rate bei den Primärtransplantation zu sehen, die die weitere Verbreitung bisher verhindert hat.



A



B

Abb. 1: Original PC 82 Prostataspan (A) x 63: fibromuskuläres Prostatagewebe, die Drüsenlichtungen sind komplett ausgefüllt mit cribriformem Adenokarzinom; bei stärkerer Vergrößerung (B) x 400:mäßige Kernpolymorphie (Malignitätsgrad 2 nach Hermanek)

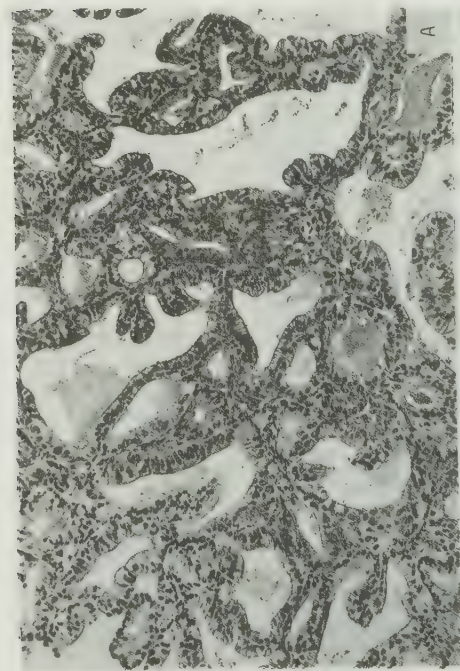


Abb. 2: Laufende Tierpassage von PC 82 (A) x 63: Cribriform aufgebaute Trabekel von Adenokarzinom, die Drüschenschläuche zum Teil mit Detritus angefüllt, wenig Bindegewebe; (B) x 400: das Cytoplasma oftmals mit kleinen Vakuolen, die Zellkerne überwiegend oval mit meist einem prominenten Nukleolus, vereinzelt Mitosen, vereinzelt Zellnekrosen. Im Vergleich zum Originaltumor konstante cribriforme Architektur

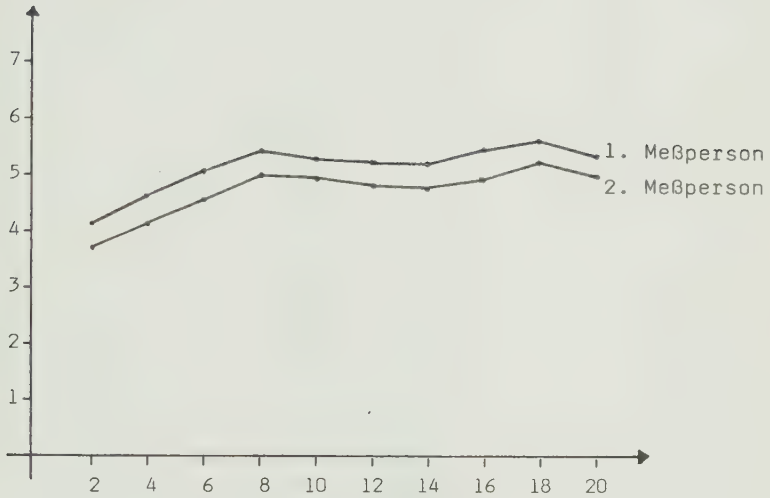


Abb. 3: Darstellung der von zwei Personen gemessenen Wachstumskurven eines Tumors. Die Kurven verlaufen parallel, durch Umrechnung der Meßwerte in Prozentwerte ergibt sich bei beiden Messungen die gleiche Steigung.

Abb. 4: Darstellung des Wachstumsverhaltens von 30 unbehandel-
ten und 15 durch Kastration bzw. Kastration plus Östrogen be-
handelten Tumoren. Während der exponentiellen Wachstumsphase
zwischen 30 und 80 Tagen nach Transplantation und einem Durch-
messer von 3 bis 7 mm verlaufen alle Wachstumskurven parallel
und linear ansteigend. Während der Therapie war kein erneutes
Wachstum eines Tumors im Sinne einer Hormonresistenz zu beob-
achten.

— PC 82 - Tumoren, unbehandelt (n=30)

- - - PC 82 - Tumoren, behandelt (n=15)

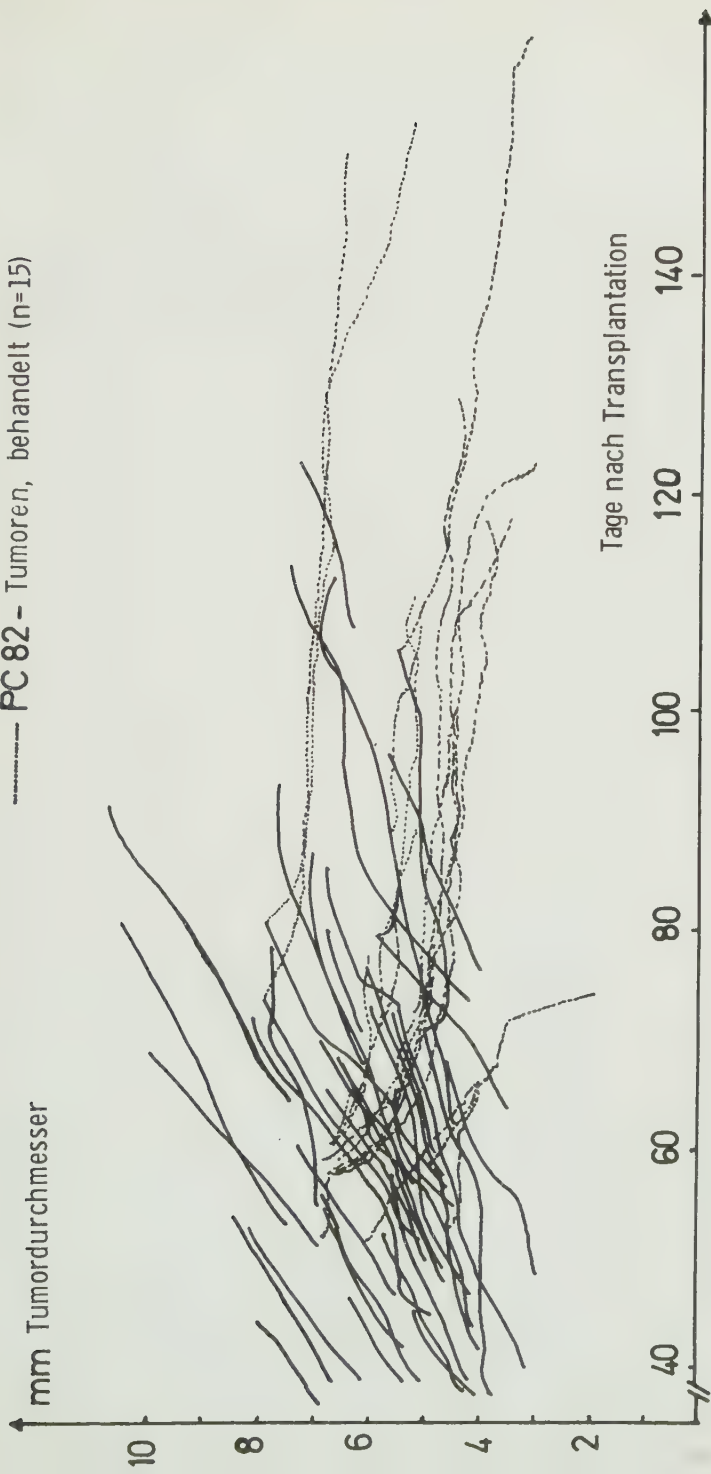
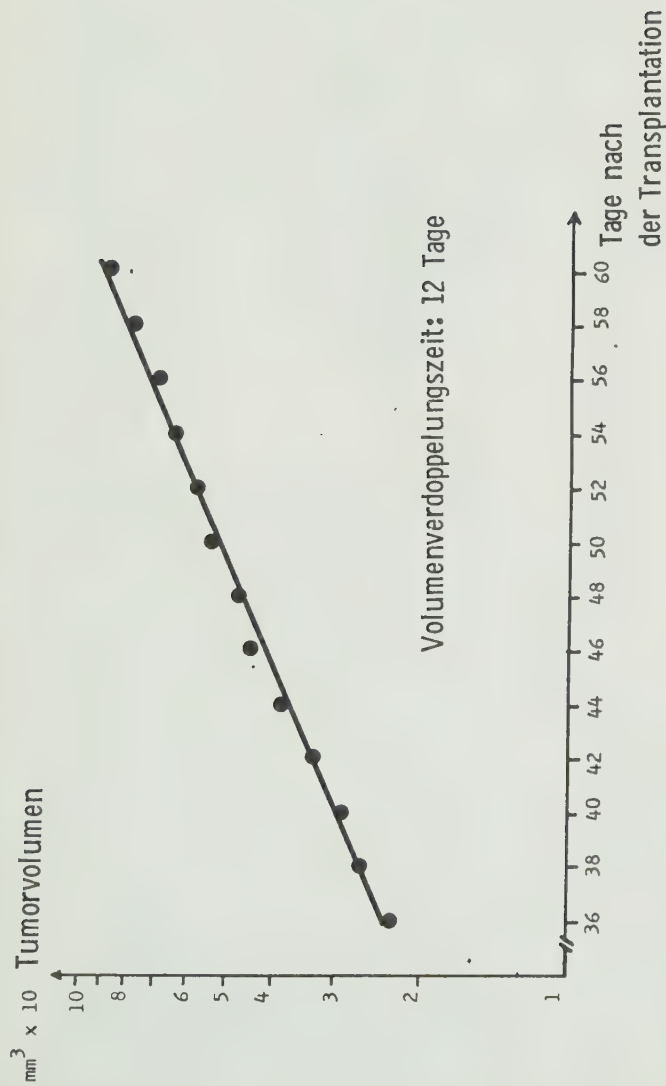
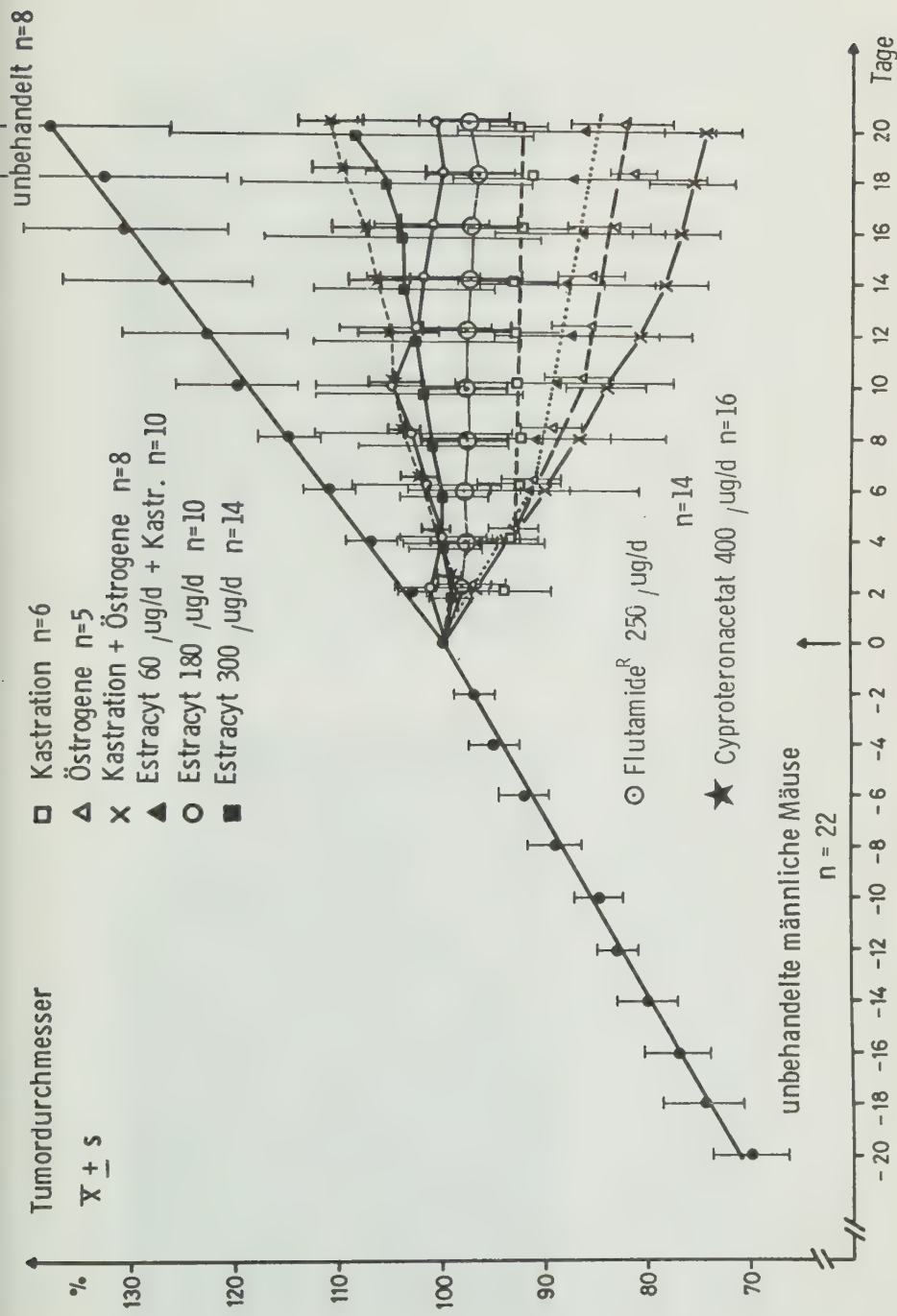


Abb. 5: Semilogarithmische Auftragung des Tumervolumens in Abhängigkeit zur Zeit nach Transplantation. Durch Extrapolieren ergab sich eine Volumenverdoppelungszeit von 12 Tagen



Bestimmung der Volumenverdoppelungszeit eines PC-82 Tumors während der exponentiellen Wachstumsphase durch semilogarithm. Darstellung. Tumordurchmesser von 3,5 - 5,5 mm gewachsen.

Abb. 6: Darstellung der Wachstumskurven aller therapierten Tumoren und einer unbehandelten Kontrollgruppe. Die Meßwerte der einzelnen Wachstumskurven wurden in Prozentwerte umgerechnet, um daraus die Durchschnittskurve jeweils einer Therapieform zu bilden. Das Ergebnis wurde mit den entsprechenden Standardabweichungen dargestellt. Auf diese Weise konnten alle Therapieverfahren direkt verglichen werden. Das Tumorstadium der Vergleichsgruppe blieb während des Beobachtungszeitraumes, gemessen am Prozentanstieg, konstant.



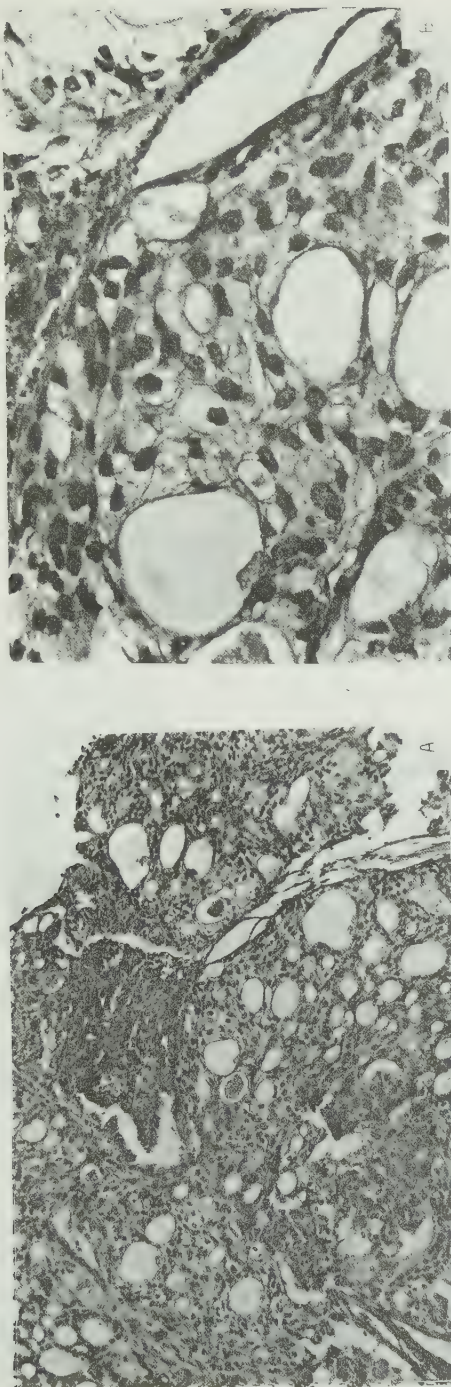


Abb. 7: PC 82 vier Wochen nach Kastration (A) x 63: Bei Vergleich mit der unbehandelten Tierpassage fällt eine Epithelabflachung, eine weitaus höhere Zahl pyknotischer Kerne, eine weniger deutliche Darstellung der Nukleoli und eine Zunahme der Vakuolisierung auf (B) x 400. Daneben diskrete Bindegewebeinsprossung und zahlreiche nekrotische Areale

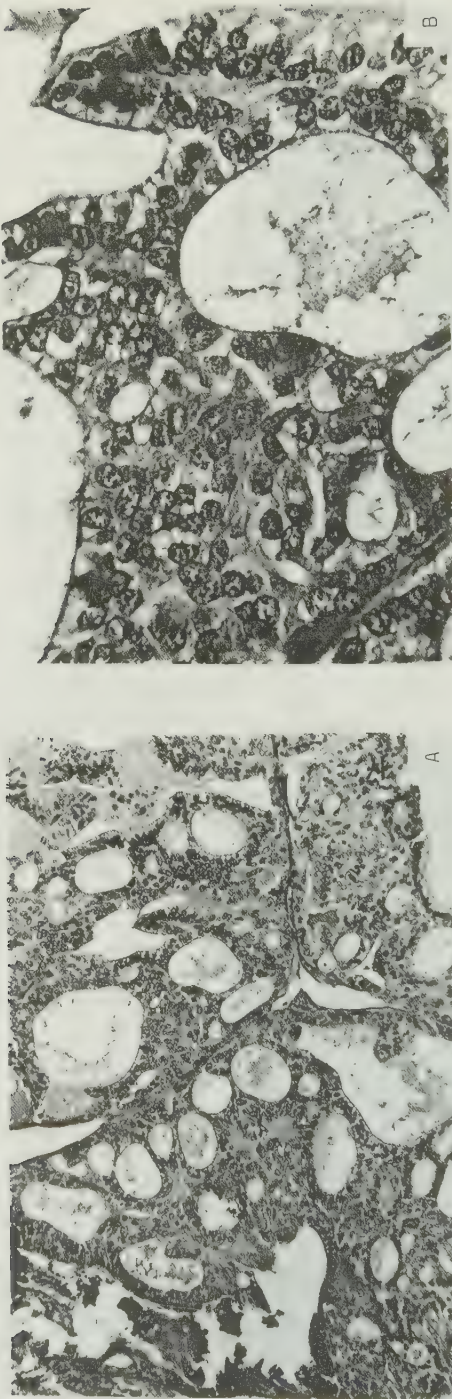
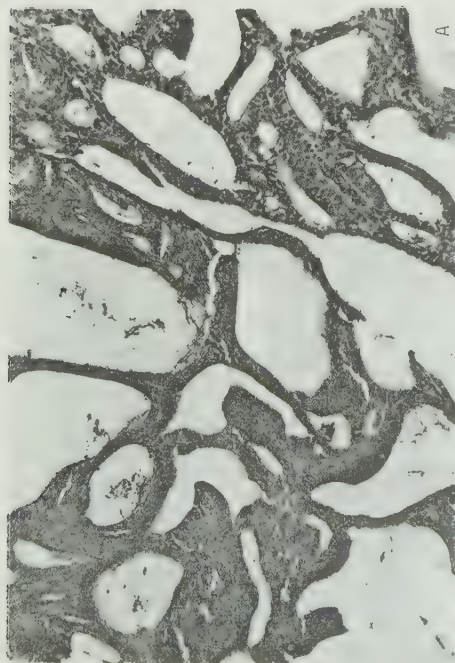
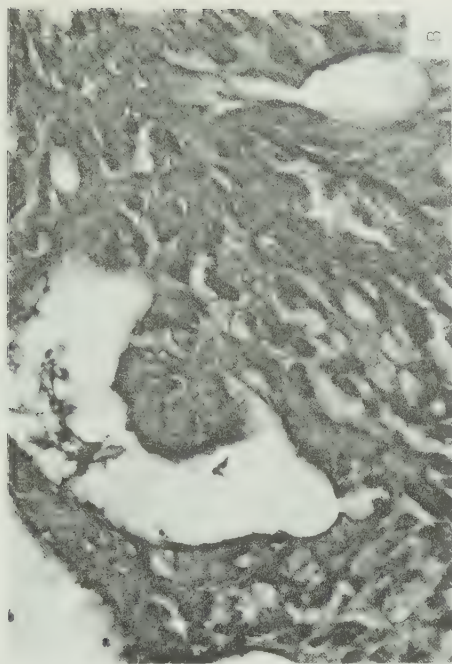


Abb. 8: PC 82 vier Wochen nach einer Kombinationstherapie aus Kastration und 20 µg 17-β-Östradiol täglich (A) x 63: Ebenfalls Epithelabflachung, daraus resultierende Erweiterung der Drüschenschläuche, nekrotische Areale mit sekundärer Verkalkung. (B) x 400: Stellenweise Bindegewebeinsprossung; im Gegensatz zur allcinigen Kastration aufgelockertes Kernchromatin mit partieller Kernvakuolisierung, z. T. auch Cytoplasmaavakuolisierung



A



B

Abb. 2: Pc 82 nach vierwöchiger Estramusrinphosphattherapie in einer Dosierung von 300 µg täglich
(A) x 63: Auffallend weite Drüsenlumina, Epithel abgeflacht; (B) x 400: partiell ballonierte Zellen mit pyknotischen Kernen

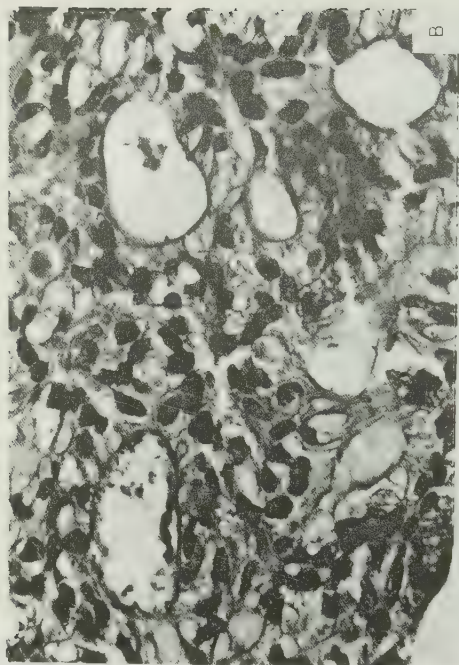
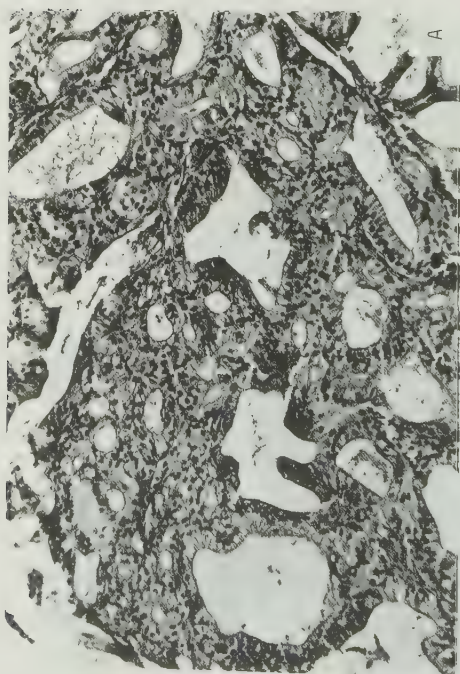


Abb. 10: PC 82 nach Behandlung mit Cyproteronacetat 400 µg täglich über 37 Tage (A) x 63 und (B) x 400: Herdförmige Vakuolisierung des Cytoplasmas, die Kerne überwiegend chromatin dicht, die Nukleolen kaum erkennbar, fokale squamöse Metaplasie mit Schaumzellbildung



A

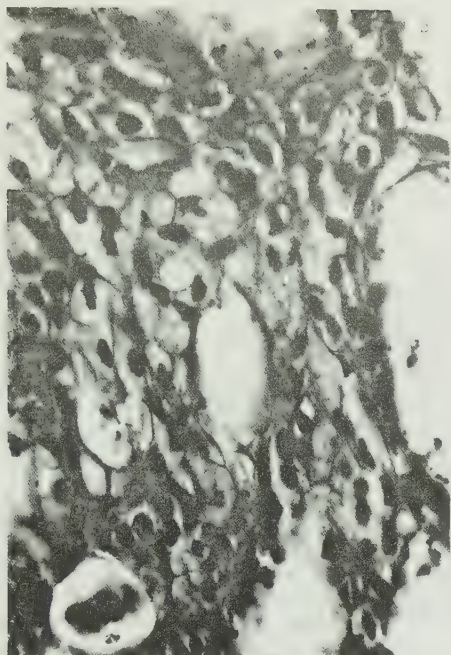


Abb. 11: PC 82 nach vierwöchiger Behandlung mit Sch 13 521, Flutamid^R, 250 µg täglich (A) x 63: weitgestellte Drüsenscnläuche, reichlich abgeschilferte Zellen in den Acini; (B) x 400: durchweg, homogen pyknotische Kerne, das Cytoplasma überwiegend vakuolisiert

VIII. Zusammenfassung

Die Heterotransplantation von humanen Prostatakarcinomen auf Nacktmäuse ist trotz noch offener Fragen nach dem Immunsystem der Tiere ein brauchbares Tumormodell für klinisch experimentelle Therapiestudien. Weder Zellkulturen in vitro noch Tierkarzinome erfüllten die Erwartungen, da einerseits androgenresistente Sublinien störend in den Vordergrund treten und sich andererseits die biologischen Tumoreigenschaften in Richtung Entdifferenzierung verändern.

PC 82 ist ein cribriformes Prostatakarcinom vom Malignitätsgrad 2 nach Hermanek, das seit 1977 auf männlichen Nacktmäusen wächst. Bis zur Mitte Oktober 1982 erreichten 22. Tierpassage blieb das ursprüngliche histologische Bild erhalten.

Paraffinschnitte des Originaltumors und von Transplantaten konnten für saure Prostataphosphatase positiv angefärbt werden. Die Serumspiegel der Tiere für saure Prostataphosphatase erwiesen sich als Beurteilungsparameter unbrauchbar. Weder auf kastrierten Männchen noch auf Weibchen war eine Tumorphosphatase beobachtet worden. Eine Metastasierung trat nicht auf. Das makroskopische Tumorstadium wurde mit einer Meßuhr bestimmt. Eine extrapolierte Volumenverdoppelung ergab einen Wert von 12 Tagen. Kastration, 17- β -Östradiolinjektionen, eine Kombination aus beiden und eine Kombination aus Kastration und Estramustinphosphatinjektionen brachten stets einen Rückgang der Tumorstadiumgröße. Aus der Anwendung von Estramustinphosphat in verschied-

denen Dosierungen, von Cyproteronacetat und von Sch 13 521 resultierte eine Wachstumsverzögerung oder ein Wachstumsstillstand.

Im histologischen Bild zeigten sich bei allen therapierten Tumoren typische Zeichen der Regression: erniedrigtes Epithel und dadurch erweiterte Drüsenlumina, stellenweise aufgehelltes oder vakuolisiertes Cytoplasma, zum Teil vakuolisierte, zum Teil pyknotische Nuklei. Diese Zeichen der hormonbedingten Regression entsprechen denen klinisch behandelter Patienten. Statistisch aussagekräftigere Serienzahlen der jeweiligen Therapieprotokolle sind in Vorbereitung.

Das Nacktmausmodell repräsentiert somit die einzigartige Möglichkeit für vergleichende und reproduzierbare Studien der Behandlung des Prostatakarzinoms. Das Hauptproblem dieses Modells ist die bisher geringe Angehrate der Primärtransplantate.

VIII. Literaturverzeichnis

- (1) Ackermann, R.: Modellsysteme urogenitaler Tumoren des Menschen - Theoretische und experimentelle Aspekte in der tumorbiologischen Grundlagenforschung. Aktuelle Urologie 12: 52-59, 1981
- (2) Bastert, G.; Fortmeyer, H.P.; Schmidt-Matthiesen, H.: Thymusaplastic Nude Mice and Rats in Clinical Oncology. Gustav-Fischer-Verlag: Stuttgart, New York, 1981
- (3) Benson, R.C.; Wear, J.B.; Gill, G.M.: Treatment of Stage D Hormon-resistant Carcinoma of the Prostate with Estramustin-Phosphat. J. Urol 121: 452-454, 1979
- (4) Bodgen, E.A.: Characterization of Animal Tumors. In: Progress in Clinical and Biological Research, Volume 37: Models for Prostate Cancer, G. P. Murphy ed.. Alan R. Liss, Inc.: New York, 1980
- (5) Caine, M.; Perlberg, S.; Gordon, R.: The Treatment of Benign Prostatic Hypertrophy with Flutamide (Sch 13 521): A Placebo Controlled Study. J. Urol. 114: 564-568, 1975
- (6) Chang, Ch.F.; Pollard, M.: In Vitro Propagation of Prostate Adenocarcinoma Cells from Rats. Invest. Urol. 14: 331-334, 1977
- (7) Drago, J.R.; Ikeda, R.M.; Maurer, R.E.; Goldman, L.B.; Tesluk, H.: The Nb Rat: Prostatic Adenocarcinoma Model. Invest. Urol. 16: 353-359, 1979
- (8) Drago, J.R.; Worgul, Th.J.; Gallagher, Ch.: Castration

- Chemotherapy Treatment of Prostatic Cancer Model. J. Surg. Res. 30: 338-342, 1981
- (9) Fingerhut, B.; Veenema, R.J.: An Animal Model for the Study of Prostatic Adenocarcinoma. Invest. Urol. 15: 42-48, 1977
- (10) Flanagan, S.P.: "Nude", a New Hairless Gene with Pleiotropic Effects on the Mouse. Genet. Res. (Camb.) 8: 295-309, 1966
- (11) Fogh, J.; Giovanella, B.C.: The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research. Academic Press, Inc.: New York, San Francisco, London 1978
- (12) Fossa, S.D.; Fossa, J.; Aakwaag, A.: Hormone Changes in Patients with Prostatic Carcinoma during Treatment with Estramustine-Phosphat. J. Urol. 118: 1013-1018, 1977
- (13) Franks, L.M.: Tissue Culture in the Investigation of Prostatic Cancer. Urol. Res. 5: 159-162, 1977
- (14) Fritjofsson, A.; Norlen, B.J.; Högberg, B.; Rajalakshmi, M.; Cekan, S.Z.; Diczfalussy, E.: Hormonal Effects of Different Doses of Estramustin-Phosphat (Estracyt^R) in Patients with Prostatic Carcinoma. Scand. J. Urol. Nephrol. 15: 37-44, 1981
- (15) Geller, J.; Albert, J.; Nachtsheim, D.A.; Loza, D.; Geller, S.: The Effects of Flutamide on Total DHT and Nuclear DHT Levels in the Human Prostate. The Prostate 2: 309-314, 1981
- (16) Geller, J.; Vazakas, G.; Fruchtman, B.; Newman, H.;

- Nakao, K.; Loh, A.: The Effect of Cyproterone Acetate on Advanced Carcinoma of the Prostate. *Surgery Gynec. Obstet.* 127: 748-758, 1968
- (17) Giovanella, B.C.: *Arch. Ital. Anat. Istol. Patol.* 33: 392-412, 1960
- (18) Giovanella, B.C.; Fogh, J.: Present and Future Trends in Investigations with the Nude Mouse as a Recipient of Human Tumor Transplantats. In: *The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research*, Fogh, J.; Giovanella, B.C. eds., Academic Press, Inc.: New York, San Francisco, London, 1978
- (19) Giovanella, B.C.; Yim, S.O.; Stehlin, J.S.; Williams, L.J.: Development of Invasive Tumors in the Nude Mouse after Injection of Cultured Human Melanoma Cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 48: 1531-1533, 1972
- (20) Giuliani, L.; Pesatore, D.; Giberti, C.; Martorana, G.; Natta, G.: Treatment of Advanced Prostatic Carcinoma with Cyproterone Acetate and Orchiectomy: A Five Year Follow up. *Eur. Urol.* 6: 145-148, 1980
- (21) Graham, S.D.; Mickey, D.D.; Paulson, D.F.: Detection of Metastatic Tumors in Nude Mice: Brief Communication. *J. Natl. Cancer Inst.* 60: 715-716, 1976
- (22) Graham, S.D.: T-Lymphocyte Induction of Metastatic Tumors in the Nude Mouse Model. *J. Urol.* 128: 832-835, 1982
- (23) Grayhack, J.T.; Kozlowski, J.M.: Endocrine Therapy in the Management of Advanced Prostatic Cancer: The Case for Early Initiation of Treatment. *Urol. Clin. N. Am.* 7:

639-643, 1980

- (24) Hartley-ASP, B.; Gunnarsson, P.O.: Growth and Cell Survival Following Treatment with Estramustine, Nor-Nitrogen Mustard, Estradiol and Testosterone of a Human Prostatic Cancer Cell Line (DU 145). J. Urol. 127: 818-822, 1982
- (25) Herberman, R.: Natural Cell-Mediated Cytotoxicity in Nude Mice. In: The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research, Fogh, J.; Giovanella, B.C. eds., Academic Press, Inc.: New York, San Francisco, London, 1978
- (26) Hermanek, P.: Pathologisch histologische Begutachtung von Tumoren. Perimed-Verlag, Erlangen 1982 (im Druck)
- (27) Hobach, M.: Das histologische Verhalten des Prostatakarzinoms unter Östrogenbehandlung und Bestrahlung. In: Verhandlungsbericht d. Dt. Ges. f. Urologie, 24. Tagung Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, New York, 1974
- (28) Höhn, W.; Schröder, F.H.; Riemann, J.F.; Joebsis, A.C.; Hermanek, P.: Human Prostatic Adenocarcinoma: Some Morphological Characteristics of a Serially Transplantable Line in the Nude Mice (PC 82). The Prostate 1: 95-104, 1980
- (29) Höhn, W.; Schweikert, H.U.; Schröder, F.H.: Testosteron Metabolism and Characterization Review of the Human Prostatic Cell Line EB 33. Urol. Res. 7: 33, 1979
- (30) Höhn, W.; Walther, R.; Hermanek, P.: Human Prostatic Adenocarcinoma: Comparative Experimental Treatment of the Tumor Linie PC 82 in Nude Mice. The Prostate 3:

193-201, 1982

- (31) Horoszewicz, J.D.; Leong, S.S.; Chu, M.T.; Friedman, M.; Kim, U.; Chai, L.S.; Kakati, S.; Arya, S.A.; Sandberg; A.A.: A New Model for Studies on Human Prostatic Carcinoma. Proc. AACR, ASCO, AACR abstr. 20: 212, 1979
- (32) Houchens, D.P.; Ovejera, A.A.; Proceedings of the Symposium on the Use of Athymic (Nude) Mice in Cancer Research Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, 1978
- (33) Huggins, Ch.; Clark, J.: J. exp. Med. 72: 747, 1940
- (34) Huggins, Ch.; Hodges, C.V.: Studies on Prostatic Cancer: The Effect of Castration, Estrogens and of Androgen Injections on Serum Phosphatases in Metastatic Carcinoma of the Prostate. Cancer Res. 1: 293, 1941
- (35) Isaacs, J.T.; Yu, G.W.; Coffey, D.S.: The Characterization of a Newly Identified, Highly Metastatic Variety of Dunning R 3327 Rat Prostatic Adenocarcinoma System: The Mat LyLu Tumor. Invest. Urol. 19: 20-23, 1981
- (36) Isaacson, J.H.; Cattanach, B.M.: Report. Mouse News Letter 27: 31, 1962
- (37) Isurugi, K.; Fukutani, K.; Ishida, H.; Hosoi, Y.: Endocrine Effects of Cyproterone Acetate in Patients with Prostatic Cancer. J. Urol. 123: 180-183, 1980
- (38) Jacobo, E.; Schmidt, J.D.; Weinstein, S.H.; Flocks, R.H.: Comparison of Flutamide^R (Sch 13 521) and Diethylstilbestrol in Untreated Advanced Prostatic Cancer. Urology 8: 231-233, 1976

- (39) Jacobi, G.H.; Altwein, J.E.; Kurth, K.H.; Basting, R.; Hohenfellner, R.: Treatment of Advanced Prostatic Cancer with Parenteral Cyproterone Acetate: A Phase III Randomised Trial. Br. J. Urol. 52: 208-215, 1980
- (40) Joebsis, A.C.; de Vries, G.P.; Anholt, R.R.H.; Sanders, G.T.B.: Demonstration of the Prostatic Origin of Metastases - an Immunohistochemical Method for Formalin-Fixed Embedded Tissue. Cancer 41: 1788-1793, 1978
- (41) Jönsson, H.; Högberg, B.; Nilsson, T.: Treatment of Advanced Prostatic Carcinoma with Estramustine Phosphate (Estracyt^R). Scand. J. Urol. Nephrol. 11: 231-238, 1977
- (42) Kaighn, E.: Characteristics of Human Prostatic Cell Cultures. Cancer Treatment Reports 61: 147-151, 1977
- (43) Kaighn, M.E.; Narayan, K.S.; Ohnuki, Y.; Lechner, J.F.; Jones, L.W.: Establishment and Characterization of a Human Prostatic Carcinoma Cell Line (PC-3). Invest. Urol. 17: 16-23, 1979
- (44) Kaighn, M.E.: Human Prostatic Epithelial Cell Culture Models. Invest. Urol. 17: 382-385, 1980
- (45) Kalland, T.; Haukaas, S.: Effect of Treatment with Diethylstilbestropolyestradiol Phosphat or Estramustine Phosphate (Estracyt^R) on Natural Killer Cell Activity in Patients with Prostatic Cancer. Invest. Urol. 18: 437-439, 1981
- (46) Kiessling, R.; Klein, E.; Pross, H.; Wigzell, H.: Natural Killer Cells in the Mouse I. Eur. J. Immunol. 5: 112-116, 1975
- (47) Kiessling, R.; Klein, E.; Pross, H.; Wigzell, H.: Natural

Killer Cells in the Mouse II. Eur. J. Immunol. 5: 117-121, 1975

- (48) Kim, U.; Han, T.; Ghosh, S.; Shin, S.; Pressman, D.: Immunological Mechanisms of Graft Resistance to Certain Malignant Tumors and Prevention of Metastases by Athymic Nude Mice. In: Third International Workshop on Nude Mice, Reed, N., ed., Gustav-Fischer-Verlag: Stuttgart, New York, 1979
- (49) Kuga, N.; Yoshida, K.; Tsutomu, S.; Oboshi, S.; Koide, T.; Shimosato, Y.; Nomura, T.: Heterotransplantation of Cultured Human Cancer Cells and Human Cancer Tissues into Nude Mice. In: Second International Workshop on Nude Mice, Nomura, T.; Ohsawa, N.; Tamaoki, N.; Fujiwara, K., eds., Gustav-Fischer-Verlag: Stuttgart, New York, 1977
- (50) Küss, R.; Khoury, S.; Richard, F.; Fourcade, F.; Capelle, J.P.: Estramustine Phosphat in the Treatment of Advanced Prostatic Cancer. Br. J. Urol. 52: 29-33, 1980
- (51) Leistenschneider, W.; Nagel, R.: Estracyt^R Therapy of Advanced Prostatic Cancer with Special Reference to Control of Therapy with Cytology and DNA Cytophotometry. Eur. Urol. 6: 111-115, 1980
- (52) Lewis, R.; Kaack, B.; Roth, J.K.; Fussell, E.N.: Prostate Epithelial Cell Culture - Application to a Possible Non-human Primate Model of Prostate Disease. Invest. Urol. 18: 251-257, 1980
- (53) Lubaroff, D.: Development of an Epithelial Tissue Culture Line from Human Prostatic Adenocarcinoma. J. Urol. 118: 612-615, 1977

- (54) Mickey, D.D.; Stone, K.R.; Wunderli, H.; Mickey, G.H.; Vollmer, R.T.; Paulson, D.F.: Heterotransplantation of a Human Prostatic Adenocarcinoma Cell Line in Nude Mice. Cancer Research 37: 4049-4058, 1977
- (55) Minato, N.; Bloom, B.; Jones, C.; Holland, J.; Reid, L.M.: Mechanism of Rejection of Virus Persistently Infected Tumor Cells by Athymic Nude Mice. J. Exp. Med. 149: 1117-1133, 1979
- (56) Möbius, G.; Schneider, P.; Hesse, P.: Zum histologischen Verhalten des Prostatakarzinoms in Abhängigkeit zum histologischen Typ. Z. Krebsforschung 64: 267-277, 1961
- (57) Müntzing, J.; Kirdani, R.Y.; Murphy, G.P.; Sandberg, A.A.: A Rat Prostatic Adenocarcinoma as a Model for the Human Disease. Invest. Urol. 17: 37-41, 1979
- (58) Murphy, G.P.: Progress in Clinical and Biological Research: Models for Prostate Cancer. Alan R. Liss, Inc.: New York, 1980
- (59) Murphy, G.P.; Slack, N.H.: The Questionable Use of Hormone Therapy in Advanced Carcinoma of the Prostate. Urol. Clin. N. Am. 7: 631-638, 1980
- (60) Nagel, R.: Die Hormontherapie des Prostatakarzinoms. Therapiewoche 26: 7673-7682, 1976
- (61) Nagel, R.; Kolln, C.P.: Treatment of Advanced Carcinoma of the Prostate with Estramustine Phosphate. Br. J. Urol. 49: 73-79, 1977
- (62) Narayana, A.S.; Loening, S.A.; Culp, D.A.: Flutamide in

the Treatment of Metastatic Carcinoma of the Prostate.
Br. J. Urol. 53: 152-153, 1981

- (63) Nelson, W.A.; Flandermeyer, R.R.: HeLa Cultured Defined.
Science 191: 96-99, 1976
- (64) Neri, R.O.; Monahan, M.: Effects of a Novel Nonsteroidal
Antiandrogen on Canine Prostatic Hyperplasia. Invest.
Urol. 10: 123-130, 1972
- (65) Neumann, F.: Klinik der Antiandrogene. Dt. Ärzteblatt
75: 1691-1699, 1978
- (66) Neumann, F.; Schenck, B.; Senge, T.; Richter, K.D.: Anti-
androgens and Prostatic Tumors (Experimental Base and
Clinical Use). In: Prostatic Disease, Alan R. Liss Inc.:
New York, 1976, pp 169-188
- (67) Nielsen S.W.: Canine and Feline Neoplasia. In: Handbook
of Laboratory Animal Science, Melby, E.C. ed., CRC Press:
Cleveland, 1976, p 909
- (68) Nilsson, T.; Mützing, J.: Estracyt^R in advanced Prostatic
Carcinoma. Scand. J. Urol. Nephrol. 6: 11-16, 1972
- (69) Nomura, T.; Ohsawa, N.; Tamaoki, N.; Fujiwara, K.: Pro-
ceedings of the Second International Workshop on Nude
Mice. Gustav-Fischer-Verlag: Stuttgart, New York, 1977
- (70) Ohnuki, Y.; Marnell, M.M.; Babcock, M.S.; Lechner, J.F.;
Kaighn, M.E.: Chromosomal Analysis of Human Prostatic
Adenocarcinoma Cell Lines. Cancer Research 40: 524-534,
1980

- (71) Okada, K.; Laudenbach, I.; Schröder, F.H.: Human Prostatic Epithelial Cells in Culture: Clonal Selection and Androgen Dependence of Cell Line EB 33. J. Urol. 115: 164-167, 1976
- (72) Okada, K.; Schröder, F.H.: Human Prostatic Carcinoma in Cell Culture: Preliminary Report on the Development and Characterization of an Epithelial Cell Line (EB 33). Urol. Res. 2: 111-121, 1974
- (73) Okada, K.; Schröder, F.H.; Jellinghaus, W.; Wullstein, H.K.; Heinemeyer, H.M.: Human Prostatic Adenoma and Carcinoma: Transplantation of Cultured Cells and Primary Tissue Fragments in "Nude Mice". Invest. Urol. 13: 395-403, 1976
- (74) Pantelouris, E.M.: Absence of a Thymus in a Mouse Mutant. Nature 217: 370-371, 1968
- (75) Pescatore, D.; Giberti, C.; Martorana, G.; Natta, G.; Giuliani, L.: The Effect of Cyproterone Acetate and Orchiectomy on Metastases from Prostatic Cancer. Eur. Urol. 6: 149-153, 1980
- (76) Pontes, J.E.; Choe, B.; Rose, N.; Pierce, J.M.: Immunochemical Identification of Prostatic Epithelial Cells in Culture. Invest. Urol. 16: 483-485, 1979
- (77) Prout, G.R.; Irwin, R.J.; Kliman, B.; Daly, J.J.; MacLaughlin, R.A.; Griffin, P.P.: Prostatic Cancer and Sch 13 521: II. Histological Alterations and the Pituitary-Gonadal Axis. J. Urol. 113: 834-840, 1975
- (78) Raff, M.C.; Wortis, H.H.: Thymus Dependence of O-Bearing

Cells in the Peripheral Lymphoid Tissues of Mice
Immunology 18: 931-943, 1970

- (79) Rambausek, M.; Lutherer, S.; Terhorst, B.: Klinische Erfahrung in der Behandlung des fortgeschrittenen metastasierenden Prostatakarzinoms mit Estracyt^R. Urolog (A) 20: 223-227, 1981
- (80) Reid, L.M.; Minato, N.; Jones, C.; Holland, J.; Bloom, B.: Rejection of Tumor Cells by Athymic Nude Mice. Host Defense Mechanism of Resistance to Tumors and to Metastases. In: Third International Workshop on Nude Mice, Reed, L.M. ed.. Gustav-Fischer-Verlag: Stuttgart, New York, 1979
- (81) Reid, L.M.; Minato, N.; Rojkind, M.: Human Prostatic Cells in Culture and in Conditioned Animals. In: Male Accessory Sex Glands, Spring-Mills, E.; Hafez, E.S.E. eds.. Elsevier/ North Holland Biochemical Press, 1980
- (82) Reid, L.M.; Holland, J.; Jones, C.; Wolf, B.; Niwayama, C.; Williams, R.; Kaplan, N.; Sato, G.: Some of the Variables Affecting the Success of Transplantation of Human Tumors into the Athymic Nude Mouse. In: Symposium on the Use of Athymic (Nude) Mice in Cancer Research, Houchens, D.; Ovejera, T. eds.. Gustav-Fischer-Verlag: Stuttgart, New York, 1978, pp 107-121
- (83) Rivenson, A.; Silverman, J.: The Prostatic Carcinoma in Laboratory Animals: A Bibliographic Survey from 1900 to 1977. Invest. Urol. 16: 468-472, 1979
- (84) Rosoff, B.: Establishment of Cultures from the Prostate - Technical Aspects. In: Progress in Clinical and Biological Research: Models for Prostate Cancer, Murphy, G.P. ed.. Alan R. Liss, Inc.: New York, 1980

- (85) Rost, M.; Schmidt-Gollwitzer, M.; Hantelmann, W.; Brosig, W.: Cyproterone Acetate, Testosterone, LH, FSH and Prolactin Levels in Plasma After Intramuscular Application of Cyproterone Acetate in Patients with Prostatic Cancer. *The Prostate* 2: 315-322, 1981
- (86) Rygaard, J.; Povlsen, C.O.: Heterotransplantation of a Human Malignant Tumor to the Mouse Mutant "Nude". *Acta Patholog. Microbiol. Scand.* 77: 758-760, 1969
- (87) Rygaard, J.: Immunobiology of the Mouse Mutant "Nude". *Acta Patholog. Microbiol. Scand.* 77: 761-762, 1969
- (88) Sachs, L.: *Angewandte Statistik*. Springer-Verlag: Berlin-Heidelberg-New York, 1974, p 245
- (89) Sandberg, A.A.; Gaunt, R.: Modelsystems for Studies of Prostatic Cancer. *Semin. Oncol.* 3: 177-187, 1976
- (90) Sanford, E.J.; Geder, L.; Jones, R.E.; Rohner, T.J.; Rapp, F.: In Vitro Culture of Human Prostatic Tissue. *Urol. Res.* 5: 207-210, 1977
- (91) Schröder, F.H.; Jellinghaus, W.: Prostatic Adenoma and Carcinoma in Cell Culture and Heterotransplantation. In: *Prostatic Disease*, Alan R. Liss, Inc.: New York, 1976, pp 301-312
- (92) Schubert, G.E.; Zeigler, H.; Völter, D.: Vergleichende histologische und cytologische Untersuchungen der Prostata unter besonderer Berücksichtigung östrogeninduzierter Veränderungen. *Verh. dtsch. Ges. Path.* 57: 315-318, 1973
- (93) Shimosato, Y.; Kameya, T.; Nagai, K.; Hirohashi, S.;

Koide, T.; Hayashi, H.; Nomura, T.: Transplantation of Human Tumors in Nude Mice. Journal of the National Cancer Institute 56: 1251-1255, 1976

- (94) Shimosato, Y.; Kameya, T.; Kubota, T.; Hirohashi, S.; Hayashi, H.; Ikeuchi, S.; Nagai, K.: Experimental Chemo-, Radio- and Endocrine Therapy for Human Cancers Transplanted in Nude Mice. In: Second International Workshop on Nude Mice, Nomura, T.; Ohsawa, N.; Tamaoki, N.; Fujiwara, K., eds.. Gustav-Fischer-Verlag: Stuttgart, New York, 1977, pp 499-508
- (95) Simon, R.; Klein, A.; Kim, U.; Shin, S.: Tumor-Host Interactions in the Development of Tumor Metastasis in the Nude Mouse. In: Third Int. Workshop on Nude Mice, Reed L.M. ed.. Gustav-Fischer-Verlag: Stuttgart, New York, 1979
- (96) Smith, R.B.; Walsh, P.C.; Goodwin, W.E.: Cyproterone Acetate in the Treatment of Advanced Carcinoma of the Prostate. J. Urol. 110: 106-108, 1973
- (97) Smolev, J.; Coffey, D.; Scott, W.: Experimental Models for the Study of Prostatic Adenocarcinoma. J. Urol. 118: 216-220, 1977
- (98) Sogani, P.C.; Whitmore, W.F.Jr.: Experience with Flutamide in Previously Untreated Patients with Advanced Prostatic Cancer. J. Urol. 122: 640-643, 1979
- (99) Stolier, B.; Albert, D.J.: Sch 13 521 in the Treatment of Advanced Carcinoma of the Prostate. J. Urol. 111: 803-807, 1974
- (100) Stone, K.R.; Mickey, D.D.; Wunderli, H.; Mickey, G.H.;

- Paulson, D.F.: Isolation of a Human Prostate Carcinoma Cell Line (DU 145). *Int. J. Cancer* 21: 274-281, 1978
- (101) Stone, K.R.; Stone, M.P.; Paulson, D.F.: In Vitro Cultivation of Prostatic Epithelium. *Invest. Urol.* 14: 79-82, 1976
- (102) Stonington, O.; Szwec, N.; Webber, M.: Isolation and Identification of the Human Malignant Prostatic Epithelial Cell in Pure Monolayer Culture. *J. Urol.* 114: 903-908, 1975
- (103) Stutman, O.; Paige, C.J.; Figarella, E.F: Natural Cytotoxic Cells Against Solid Tumors in Mice: Strain and Age Distribution and Target Cell Susceptibility. *J. Immunol.* 121: 1819-1826, 1978
- (104) Tveter, K.J.; Attramadal, A.; Hannested, R.; Otres, B.: A Morphological Study on the Effect of Cyproterone Acetate on Human Prostatic Carcinoma. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 13: 237-243, 1979
- (105) Tveter, K.J.; Otres, B.; Hannestad, R.; Treatment of Prostatic Carcinoma with Cyproterone Acetate. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 12: 115-118, 1973
- (106) Varkarakis, M.J.; Kirdani, R.Y.; Yamanaka, H.; Murphy, G.P., Sandberg, A.A.: Prostatic Effect of a Nonsteroidal Antiandrogen. *Invest. Urol.* 12: 275-284, 1975
- (107) Wakisaka, M.; Iwasaki, I.; Shimazaki, J.: Effects of Estramustine Phosphate (Estracyt^R) on Transplantable Mouse Tumors. *Urol. Res.* 7: 291-298, 1979

- (108) Watanabe, H.; Ohe, H.; Ando, K.; Sawamura, Y.; Niijima, T.; Nakamura, S.; Orikasa, S.; Tanahashi, Y.; Imamura, K.; Yoshida, H.: The Effect of Estramustine Phosphate on Prostatic Cancer Estimated by Transrectal Ultrasonography. The Prostate 2: 155-161, 1981
- (109) Webber, M.: In Vitro Models for Prostatic Cancer. In: Progress in Clinical and Biological Research: Models for Prostate Cancer, Murphy, G., ed.. Alan R. Liss Inc.: New York, 1980
- (110) Wein, A.J.; Murphy, J.J.: Experience in the Treatment of Prostatic Carcinoma with Cyproterone Acetate. J. Urol. 109: 68-70, 1973
- (111) Williams, R.D.; Bronson, D.; Elliott, A.; Gehrke, Ch.; Kuo, K.; Fraley, E.: Biochemical Markers of Cultured Human Prostatic Epithelium. J. Urol. 119: 768-771, 1978
- (112) Wong, A.L.; McGeorge, A.; Abel, B.J.: Treatment of Advanced Oestrogen-Resistant Prostatic Carcinoma with Estramustine Phosphate. Clinical Oncology 7: 163-165, 1981
- (113) Wortis, H.H.; Nehlsen, S.; Owen, J.J.: Abnormal Development of the Thymus in "Nude" Mice. J. Exp. Med. 134: 681-692, 1971

Danksagung

Dem Referenten, Herrn Professor Dr. Sigel, Direktor der Urologischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Herrn Professor Dr. Hermanek, Leiter der Abteilung für Klinische Pathologie an der Chirurgischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg, bin ich für die histologischen Präparate und wertvolle Hinweise für die Ausarbeitung sehr zu Dank verpflichtet.

Bei Herrn Dr. W. Höhn, Urologische Klinik, muß ich mich sehr herzlich für die jederzeit zuvorkommende, großartige Unterstützung bedanken.

Schließlich sei noch den Damen im urologischen Tierlabor, besonders Frau E. Williams und Frl. cand. med. M. Wagner für die ausgezeichnete Zusammenarbeit gedankt.

Lebenslauf

Name: Reimund Erich W a l t h e r

geboren am: 19. April 1957 in Weißdorf/Oberfranken
ev.-luth. Bekenntnisse

Wohnort: Hallersteiner-Straße 29, 8661 Weißdorf

Eltern: Hilmar Walther, Werkzeugdreher
Irmgard Walther, geb. Schiller, Schneiderin

Schulen: 1963 - 1967 Volksschule in Weißdorf
1967 - 1976 math.-natwiss. Gymnasium in Münchberg
Abitur am 25. Juni 1976 in Münchberg

Wehrdienst: Juli bis Oktober 1976 teilweise Ableistung des
Grundwehrdienstes in Regensburg

Studium: Seit dem Wintersemester 1976/77 Studium der
Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg; Praktisches Jahr an der Urolo-
gischen und Chirurgischen Klinik der Universität
und am Stadtkrankenhaus Hof

Prüfungen: August 1978: Ärztliche Vorprüfung
August 1979: 1. Teil der Ärztlichen Prüfung
März 1982: 2. Teil der Ärztlichen Prüfung
März 1983: 3. Teil der Ärztlichen Prüfung
Zeugnis über die Ärztliche Prüfung vom 14. 4. 1983

Famulaturen: März/April 1979: Städt. Urologie, Thalkirchner-
straße, München (Prof. Dr. Hofstetter)
März/April 1980: Praxisfamulatur in Erlangen
August/September 1980: Chirurg. Abteilung des
Kr.-Krhs. Münchberg (CA Dr. G. Glenk)

